

3  
PCI/JF98/00891

03.04.98

日本国特許庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT-

RECEIVED 04 JUN 1998

WIPO

POST

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application:

1997年 3月 4日

出願番号  
Application Number:

平成 9年特許願第049337号

出願人  
Applicant(s):

サントリー株式会社

PRIORITY DOCUMENT

1998年 5月22日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

荒井寿光

出証番号 出証特平10-3037725

【書類名】 特許願

【整理番号】 973258

【提出日】 平成 9年 3月 4日

【あて先】 特許庁長官 荒井 寿光 殿

【国際特許分類】 C12P 7/40

【発明の名称】 高度不飽和脂肪酸及びこれを含有する脂質の製造方法

【請求項の数】 39

【発明者】

【住所又は居所】 広島県東広島市鏡山北317-3 下見職員宿舍1-5  
01

【氏名】 鈴木 修

【発明者】

【住所又は居所】 広島県東広島市高屋高美が丘4-14-9

【氏名】 小埜 和久

【発明者】

【住所又は居所】 広島県広島市佐伯郡大野町沖塩屋2-9-13

【氏名】 重田 征子

【発明者】

【住所又は居所】 広島県東広島市西条町下見4470-6-203

【氏名】 秋 庸裕

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町山崎1-9-5-1006

【氏名】 秋元 健吾

【特許出願人】

【識別番号】 000001904

【氏名又は名称】 サントリー株式会社

【代表者】 鳥井 信一郎

【代理人】

【識別番号】 100077517

【弁理士】

【氏名又は名称】 石田 敬

【電話番号】 03-5470-1900

【選任した代理人】

【識別番号】 100087871

【弁理士】

【氏名又は名称】 福本 積

【選任した代理人】

【識別番号】 100088269

【弁理士】

【氏名又は名称】 戸田 利雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100082898

【弁理士】

【氏名又は名称】 西山 雅也

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 036135

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9300154

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 高度不飽和脂肪酸及びこれを含有する脂質の製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella a) 属に属する微生物を培地中で培養して、アラキドン酸又はこれを含有する脂質を生成せしめ、そしてアラキドン酸を採取することを特徴とするアラキドン酸の製造方法。

【請求項2】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella a) 属に属する微生物を培養して、アラキドン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてアラキドン酸を含有する脂質を採取することを特徴とするアラキドン酸を含有する脂質の製造方法。

【請求項3】 上記モルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物が、モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物である請求項1又は2記載の製造方法。

【請求項4】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アリアセア (alliacea) 種に属する微生物である請求項3記載の製造方法。

【請求項5】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アルピナ (alpina) 種に属する微生物である請求項3記載の製造方法。

【請求項6】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、モルティエセラ属 SAM2197株 (FERM P-16106) である請求項3記載の製造方法。

【請求項7】 培養開始時の炭素源濃度が4%以上であることを特徴とする請求項1乃至6のいずれかに記載のアラキドン酸又はこれを含有する脂質の製造方法。

【請求項8】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella a) 属に属する微生物を、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素阻害剤を含有する培地中で培養して、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸又はこれを含有する脂質を生成せしめ、そしてジホモ

ーリノレン酸を採取することを特徴とするジホモーリノレン酸の製造方法。

【請求項9】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella a) 属に属する微生物を、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素阻害剤を含有する培地中で培養して、ジホモーリノレン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてジホモーリノレン酸を含有する脂質を採取することを特徴とするジホモーリノレン酸を含有する脂質の製造方法。

【請求項10】 上記モルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物が、モルティエレラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物である請求項8又は9記載の製造方法。

【請求項11】 上記モルティエレラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アリアセア (alliacea) 種に属する微生物である請求項10記載の製造方法。

【請求項12】 上記モルティエレラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アルピナ (alpina) 種に属する微生物である請求項10記載の製造方法。

【請求項13】 上記モルティエレラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、モルティエレラ属SAM2197株 (FERM P-16106) である請求項10記載の製造方法。

【請求項14】 前記培地がさらに培養開始時の炭素源濃度が4%以上であることを特徴とする請求項8乃至13のいずれかに記載のジホモーリノレン酸又はこれを含有する脂質の製造方法。

【請求項15】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物を、20℃以下で培養して、エイコサペンタエン酸又はこれを含有する脂質を生成せしめ、そしてエイコサペンタエン酸を採取することを特徴とするエイコサペンタエン酸の製造方法。

【請求項16】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物を、20℃以下で培養して、エイコサペンタエン酸を含有する脂質を生成せしめ、そしてエイコサペンタエン酸を含有する脂質を採取す

ることを特徴とするエイコサペンタエン酸を含有する脂質の製造方法。

【請求項17】 上記モルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物が、モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物である請求項15又は16記載の製造方法。

【請求項18】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アリアセア (alliacea) 種に属する微生物である請求項17記載の製造方法。

【請求項19】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アルピナ (alpina) 種に属する微生物である請求項17記載の製造方法。

【請求項20】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、モルティエセラ属 SAM2197株 (FERM P-16106) である請求項17記載の製造方法。

【請求項21】 培養開始時の炭素源濃度が4%以上であることを特徴とする請求項15乃至20のいずれかに記載のエイコサペンタエン酸又はこれを含有する脂質の製造方法。

【請求項22】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物、及び／又は該微生物から採取される高度不飽和脂肪酸を含有する脂質からなる動物用飼料。

【請求項23】 上記モルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物が、モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物である請求項22記載の動物用飼料。

【請求項24】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アリアセア (alliacea) 種に属する微生物である請求項23記載の動物用飼料。

【請求項25】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が、アルピナ (alpina) 種に属する微生物である請求項23記載の動物用飼料。

【請求項26】 上記モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属す

る微生物が、モルティエラ属SAM2197株(FERM P-16106)である請求項23記載の動物用飼料。

【請求項27】 前記動物用飼料がさらにその他の飼料成分を含有することを特徴とする請求項22乃至26のいずれかに記載の動物用飼料。

【請求項28】 上記動物用飼料が家禽用飼料である請求項22又は27記載の動物用飼料。

【請求項29】 上記高度不飽和脂肪酸が、アラキドン酸、ジホモγーリノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸である請求項22乃至28のいずれかに記載の動物用飼料。

【請求項30】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエラ (*Mortierella*) 属に属する微生物、及び／又は該微生物から採取される高度不飽和脂肪酸を含有する脂質からなる食品。

【請求項31】 上記モルティエラ (*Mortierella*) 属に属する微生物が、モルティエラ亜属 (*Subgenus Mortierella*) に属する微生物である請求項30記載の食品。

【請求項32】 上記モルティエラ亜属 (*Subgenus Mortierella*) に属する微生物が、アリアセア (*alliacea*) 種に属する微生物である請求項31記載の食品。

【請求項33】 上記モルティエラ亜属 (*Subgenus Mortierella*) に属する微生物が、アルピナ (*alpina*) 種に属する微生物である請求項31記載の食品。

【請求項34】 上記モルティエラ亜属 (*Subgenus Mortierella*) に属する微生物が、モルティエラ属SAM2197株(FERM P-16106)である請求項31記載の食品。

【請求項35】 前記食品がさらにその他の食品成分を含有することを特徴とする請求項30乃至34のいずれかに記載の食品。

【請求項36】 前記脂質がトリグリセリド油である請求項30乃至35のいずれかに記載の食品。

【請求項37】 上記高度不飽和脂肪酸が、アラキドン酸、ジホモγーリ

ノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸である請求項30乃至36のいずれかに記載の食品。

【請求項38】 前記食品が未熟児用調製乳、幼児用調製乳、乳幼児用食品、妊産婦用食品、機能性食品又は栄養補助食品である請求項30乃至37のいずれかに記載の食品。

【請求項39】 高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ属SAM2197株(FERM P-16106)。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は醗酵法によるアラキドン酸、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸及びそれらを含む脂質の製造方法、並びに高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ(*Mortierella*)属に属する微生物、及び／又は該微生物から採取される高度不飽和脂肪酸を含む脂質からなる動物用飼料又は食品に関する。

【0002】

【従来の技術】

アラキドン酸(5、8、11、14-エイコサテトラエン酸)や、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸(8、11、14-エイコサトリエン酸)、エイコサペンタエン酸(5、8、11、14、17-エイコサペンタエン酸)は、プロスタグランジン、ロイコトリエン、トロンボキサン等のエイコサノイドの前駆体となり得るほか、その脂肪酸自身のもつ生理活性からも注目されている。例えばエイコサペンタエン酸は血栓防止作用あるいは脂質低下作用に基づいて健康食品や医薬品として市販されている。

【0003】

またアラキドン酸は、近年、ドコサヘキサエン酸と同じく母乳中に含まれており、乳児の発育に役立つとの報告がある(「Advances in Polyunsaturated Fatty Acid Research」, Elsevier Science Publishers, 1993, pp.261-264)。さらに、胎児の身長や脳の発育における重要性が報告されている(Proc. Natl. Ac



ad. Sci. USA, 90, 1073-1077 (1993), Lancet, 344, 1319-1322 (1994) )。そこで、母乳と調製粉乳の脂肪酸組成の大きな違いであるアラキドン酸及びドコサヘキサエン酸を調製粉乳に添加しようとする動きがある一方、早産児の場合のアラキドン酸、ドコサヘキサエン酸の摂取量をそれぞれ60、40 (mg/kg/日)に、成熟児の場合のアラキドン酸、ドコサヘキサエン酸の摂取量をそれぞれ40、20 (mg/kg/日)にするようにとの勧告書もFAO/WHOより出されている。

【0004】

このようなアラキドン酸、ジホモ- $\gamma$ -リノレン酸又はエイコサペンタエン酸の製造方法としては、モルティエレラ (*Mortierella*) 属に属する微生物を使用して、従来よりも高収率で得る方法が開発されている(特公平7-34752、特開平6-153970、特開平8-214893、Chapter 4 in Industrial Applications of Single Cell Oil, ed. by D.J. Kyle and C. Ratledge, American Oil Chemists Society, Illinois, 1992、WO96/21037、特公平7-22513、特公平7-12315、特開平1-243992)。

【0005】

しかしながらここで使用されているモルティエレラ (*Mortierella*) 属に属する微生物は、いずれも高グルコース濃度に対する耐性が低く、実際の通気攪拌培養での工業生産ではグルコースの流加培養を実施していたのが現状であり、製造工程が煩雑になってしまうという問題点があった。また従来アラキドン酸、ジホモ- $\gamma$ -リノレン酸又はエイコサペンタエン酸に使用されているモルティエレラ (*Mortierella*) 属モルティエレラ亜属 (Subgenus *Mortierella*) に属する微生物は、 $\gamma$ -リノレン酸の製造に用いられているモルティエレラ (*Mortierella*) 属マイクロムコール亜属 (Subgenus *Micromucor*) に属する微生物と比較して、明らかに菌の生育度(培地あたりの乾燥菌体重量)が低く、その結果、培地当たりで得られる高度不飽和脂肪酸を含有する脂質の生産量は低いものであった(例えば、モルティエレラ亜属に属する *Mortierella alpina* の生育度が22.5g/Lに対して、マイクロムコール亜属に属する *Mortierella ramanniana* var. *angulispora* の生育度は79g/Lに達している(Chapter 5, Chapter 7 in Industrial Applications of Single Cell Oil, ed. by D.J. Kyle and C. Ratledge

, American Oil Chemists Society, Illinois, 1992 ) ) 。

【0006】

アラキドン酸の生産性に関して、特開平6-153970の実施例では、初発グルコース濃度2%、培養7日間で4.09g/Lのアラキドン酸が生産されているが、菌の生育が悪くアラキドン酸生産量も低い値であった。また特開平8-214893の実施例では、初発グルコース濃度4.3%、培養3日間で2.3g/Lのアラキドン酸が生産されているが、アラキドン酸生産量は非常に低いものであり実用的でない。また「Chapter 4 in Industrial Applications of Single Cell Oil, ed. by D.J. Kyle and C. Ratledge, American Oil Chemists Society, Illinois, 1992」の実験結果では、初発デキストロース濃度9.8%、培養7日間で1.5g/L、初発デキストロース濃度9.8%、培養16日間で9.1g/Lのアラキドン酸が生産されているが、初発デキストロース濃度が高いため特に菌の生育が悪く、培養7日目でのアラキドン酸生産量はわずか1.5g/Lと低く、生産量を確保するために培養日数を16日間としているため、明らかに実用的ではなかった。

【0007】

WO96/21037の実施例では、初発グルコース濃度10%、培養8日間で5.3g/Lのアラキドン酸が生産されているが、高グルコース濃度に対する菌の生育阻害を抑制する目的で、pHコントロール、塩類添加などの手法を駆使しており、高グルコース濃度培養の可能性を示した点では意義があるものの、煩雑な操作を要求するとともに、残念ながら生産性も5.3g/L止まりであった。いずれにせよ、すでに報告されている知見では、菌の生育度が悪く、生産量も約5g/Lが上限であり、通常の培養で7g/L以上の生産性を示すものはなかった。

したがって、従来より明らかに、高濃度の炭素源に対する耐性が高く、しかも十分な生育度を有し、アラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸又はエイコサペンタエン酸を大量に、簡便な操作で効率よく製造する方法を開発することが強く望まれている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

従って本発明は、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella a) 属に属する微生物を利用して、アラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸又はそれらを含有する脂質の効率的な製造方法、並びに高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物、及び／又は該微生物から採取されるアラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を含有する脂質からなる動物用飼料又は食品を提供しようとするものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者等は、上記の目的を達成するために種々研究した結果、高濃度の炭素源に対する耐性があり、菌の生育度が高く、その結果としてアラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸又はそれらを含有する脂質の生産性が高まったモルティエレラ属に属する微生物を見だし本発明を完成した。

従って本発明は、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella a) 属に属する微生物を培地中で培養して、アラキドン酸又はこれを含有する脂質を生成せしめ、そしてアラキドン酸又はこれを含有する脂質を採取することを特徴とするアラキドン酸又はこれを含有する脂質の製造方法を提供する。

【0010】

本発明はまた、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物を、Δ5不飽和化酵素阻害剤を含有する培地中で培養して、ジホモ-γ-リノレン酸又はこれを含有する脂質を生成せしめ、そしてジホモ-γ-リノレン酸又はこれを含有する脂質を採取することを特徴とするジホモ-γ-リノレン酸又はこれを含有する脂質の製造方法を提供する。

本発明はまた、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物を、20℃以下で培養して、エイコサペンタエン酸又はこれを含有する脂質を生成せしめ、そしてエイコサペンタエン酸又はこれを含有する脂質を採取することを特徴とするエイコサペンタエン酸又はこれを含有する脂質の製造方法を提供する。

【0011】

本発明はまた、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物、及び／又は該微生物から採取される高度不飽和脂肪酸を含有する脂質からなる動物用飼料を提供する。

本発明はさらに、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物、及び／又は該微生物から採取される高度不飽和脂肪酸を含有する脂質からなる食品を提供する。

本発明はまた、高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ属 SAM 2197 株 (FERM P-16106) を提供する。

【0012】

【発明の実施の形態】

本発明で使用される高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物とは、モルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物であって、培養開始時の炭素源濃度が4%以上、好ましくは8%以上、より好ましくは11%以上で、培養開始時の窒素源濃度が2%以上である液体培地を用いて通気攪拌培養により常法に従って培養を2～12日間、好ましくは5～12日間、より好ましくは5～10日間行ったとき、培地あたり、アラキドン酸を7g/L以上生産できる能力を有する微生物である。

【0013】

このような特徴を有するモルティエセラ (Mortierella) 属に属する微生物を用いることによって、培養条件や培地への添加物によっては、アラキドン酸の他、ジホモγ-リノレン酸又はエイコサペンタエン酸も従来より高収率で得ることができる。

なおモルティエセラ (Mortierella) 属には、モルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) とマイクロムコール亜属 (Subgenus Micromucor) があることが知られており、アラキドン酸、ジホモγ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸の製造にはモルティエセラ亜属 (Subgenus Mortierella) に属する微生物が望ましい。

【0014】

またモルティエラ亜属 (Subgenus Mortierella) には、アルピナ区 (Section Alpina)、フィグロフィラ区 (Section Hygrophila)、モルティエラ区 (Section Mortierella)、シュマツカリ区 (Section Schmuckeri)、シンプレックス区 (Section Simplex)、スピノサ区 (Section Spinosa)、スチロスボラ区 (Section Stylospora) 等があることが知られており、アラキドン酸、ジホモγ-リノレン酸及び/又はエイコサペンタエン酸の製造にはアルピナ区 (Section Alpina) に属する微生物が望ましい。

【0015】

またアルピナ区 (Section Alpina) にはアルピナ (alpina) 種やアリアセア (alliacea) 種等があることが、フィグロフィラ区 (Section Hygrophila) にはエロンガタ (elongata) 種やミヌティッシマ (minutissima) 種等があることが、モルティエラ区 (Section Mortierella) にはポリセファラ (polycephala) 種等があることが、スチロスボラ区 (Section Stylospora) にはバーティシラタ (verticillata) 種等があることが知られている。

具体的な菌株としては、例えば本発明者らが土壌から分離した菌株 Mortierella sp. SAM2197株 (FERM P-16106号) を使用することができる。

【0016】

Mortierella sp. SAM2197株は下記の菌学的性質を有する。

培養性状 (25℃、5日間、暗黒下で培養)

LC A培地 (Glucose 1g,  $\text{KH}_2\text{O}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.2g, KCl 0.2g,  $\text{NaNO}_3$  0.2g, Yeastextract 0.2g, Agar 13g, Distilled Water 1,000ml, pH 6.5 ~ 7.0) :

コロニーの直径は65mm。コロニーは白色。わずかに気生菌糸成を形成する。

コーンミール寒天培地 (Difco 社、カタログ番号: 0386-02-2) :

コロニーの直径は50mm。ややバラの花弁状を呈する。コロニーは白色。わずかに気生菌糸成を形成する。

【0017】

形態学的特徴

気生菌糸から胞子のう柄を形成する。胞子のう柄は長さ60~120μm。胞

子のう柄は分岐しない。胞子のう柄は基部から先端に向けて先細るが胞子のう直下の所でわずかに幅を増す。胞子のう柄基部はしばしば不規則な形態に膨大する。胞子のう柄の先端に無色の胞子のうが形成される。胞子のうが離脱した胞子のう柄の先端には明瞭なカラーが観察される。胞子のうは数個あるいは多数の胞子のう胞子を含む。

【0018】

多数の胞子のう胞子を含む胞子のうは歪球形で、直径は約 $15\mu\text{m}$ 、胞子のう胞子は、単細胞で楕円形、無色、長さ $3\sim5\mu\text{m}$ 、幅 $1.5\sim2.5\mu\text{m}$ 。数個の胞子のう胞子を含む胞子のうは不規則な形態をとる。楕円形、歪球形あるいは不規則な形態の壁の薄い厚膜胞子を形成する。

本発明の高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (*Mortierella*) 属に属する微生物は、以下に示す培養条件及び培養方法で培養することができる。

【0019】

本発明に使用される菌株を培養する為には、その菌株の胞子、菌糸、又は予め培養して得られた前培養液を、液体培地又は固体培地に接種し培養する。液体培地の場合に、炭素源としてはグルコース、フラクトース、キシロース、サッカロース、マルトース、可溶性デンプン、糖蜜、グリセロール、マンニトール、クエン酸、コーンスターチ等の一般的に使用されているものがいずれも使用できるが、特にグルコース、フラクトース、マルトース、グリセロール、クエン酸、コーンスターチが好ましい。

【0020】

窒素源としてはペプトン、酵母エキス、麦芽エキス、肉エキス、カザミノ酸、コーンステイーブリカー、大豆タンパク等の天然窒素源の他に、尿素等の有機窒素源、ならびに硝酸ナトリウム、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム等の無機窒素源を用いることができる。その他必要に応じて微量栄養源として、リン酸カリウム、リン酸二水素カリウム等のリン酸塩、硫酸アンモニウム、硫酸ナトリウム、硫酸マグネシウム、硫酸鉄、硫酸銅、塩化マグネシウム、塩化カリウム等の無機塩及びビタミン等も使用できる。

【0021】

また本発明においては、培地中に目的とするアラキドン酸、ジホモγ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸の基質を添加することにより、該高度不飽和脂肪酸の蓄積を促進することもできる。この基質として、例えば、ヘキサデカン若しくはオクタデカンのごとき炭化水素；オレイン酸若しくはリノール酸のごとき脂肪酸又はその塩、例えばナトリウム塩若しくはカリウム塩、又は脂肪酸エステル、例えばエチルエステル、グリセリン脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル；又はオリーブ油、大豆油、なたね油、綿実油若しくはヤシ油のごとき油脂類を単独で、又は組み合わせて使用できる。しかし、これらに限られるものではない。基質の総添加量は培地に対して0.001～10重量%、好ましくは0.5～10重量%である。またこれらの基質を唯一の炭素源として培養してもよい。

#### 【0022】

上記の炭素源、窒素源、無機塩類、ビタミン及び／又は基質等の培地成分は、培養開始前の培地及び／又は培養中の培養液に添加することができる。これらの成分は一度に添加することもでき、又は連続的に、若しくは複数回に分けて経時的に添加することもできる。これらの培地成分は各々単独で、又は予め混合して添加することができる。これらの培地成分は微生物の生育を害しない濃度であれば特に制限はない。実用上、一般に炭素源の総添加量は0.1～30重量%、好ましくは2～30重量%の濃度にすることが望ましい。

#### 【0023】

さらに本発明で使用する微生物は高濃度の炭素源に耐性を有する菌株であることから、培養開始時の培地中の炭素源濃度を4重量%以上、好ましくは8重量%以上、より好ましくは11重量%以上とすることができる。これによって培養操作の簡素化をはかることができる。さらに培養中の培養液に添加する場合にも、炭素源を2%以上、好ましくは4重量%以上、より好ましくは6重量%以上の濃度で流加することが可能となり、効率良く菌の増殖並びに目的とする高度不飽和脂肪酸の生産を行うことができる。

また窒素源の総添加量は、0.01～10重量%、好ましくは0.1～10重量%の濃度とするのが良い。また培養開始時の培地中の窒素源濃度は2重量%以

上とすることができ、また培養途中の培養液に窒素源を流加することもできる。

【0024】

培養温度は5～40℃、好ましくは20～30℃とし、また20～30℃にて培養して菌体を増殖せしめた後5～20℃にて培養を続けて目的とする高度不飽和脂肪酸を生産せしめる。このような温度管理により、生成脂肪酸中の高度不飽和脂肪酸の比率を上昇せしめることができる。培地のpHは4～10、好ましくは6～9として通気攪拌培養、振盪培養、又は静置培養を行う。特に液体培地を用いた通気攪拌培養は、目的とする高度不飽和脂肪酸を効率よく製造するのに好ましい。培養は通常2～12日間、好もしくは5～12日間、より好ましくは5～10日間行う。

【0025】

培養温度を培養開始時よりあるいは培養途中より20℃以下にすることでエイコサペンタエン酸を生産することができる。また、エイコサペンタエン酸の前駆体である $\alpha$ -リノレン酸あるいは $\alpha$ -リノレン酸を含有する脂質（例えば、亜麻仁油、シソ油など）を培地に添加すればエイコサペンタエン酸が効率的に生産されるし、培養温度を20℃以下にすることで、さらに生産性が向上する。

固体培養で培養する場合は、固形物重量に対して50～100重量%の水を加えたふすま、もみがら、米ぬか等を用い、5～40℃、好ましくは前記の温度において、3～14日間培養を行う。この場合に必要に応じて培地中に窒素源、無機塩類、微量栄養源を加えることができる。

【0026】

またジホモ $\gamma$ -リノレン酸の生産量を増加せしめるためには、本発明の微生物を $\Delta 5$ 不飽和化酵素阻害剤の存在下で培養するのが好ましい。 $\Delta 5$ 不飽和化酵素阻害剤としては、セサミン、セサミノール、エピセサミン、エピセサミノール、セサモリン、2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン、2,6-ビス-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)-3,7-ジオキサビシクロ[3.3.0]オクタン又は2-(3,4-メチレンジオキシフェニル)-6-(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェノキシ)-3,7-ジオキ



サビシクロ [3. 3. 0] オクタン等のリグナン類化合物；ピペロニルブトキシイド；クルクミン；胡麻油；落花生油；香辛性植物、例えばタラゴン (Tarragon)、イノンド種子 (Dill Seed)、パセリ (Parsley)、ウコン (Turmeric)、ナツメグ (Nutmeg) 等からの抽出物；五加皮の抽出物；桐木の抽出物；白果樹皮の抽出物；ヒハツの抽出物；細辛の抽出物；胡麻油、胡麻油製造過程の副産物（例えば胡麻種子の脱脂粕、胡麻油の脱臭スカム等）、胡麻種子等からの抽出物などを使用することができる。

【0027】

なお、胡麻油、胡麻油製造過程の副産物（例えば胡麻種子の脱脂粕、胡麻油の脱臭スカム等）、胡麻種子等からの抽出物は、胡麻油とは実質的に非混和性であり且つ  $\Delta 5$  不飽和化酵素阻害活性を有する成分を抽出・溶解することのできる種々の有機溶剤を用いて調製することができる。このような有機溶剤として、例えばアセトン、メチルエチルケトン、ジエチルケトン、メタノール、エタノール等を挙げることができる。また溶媒抽出だけでなく水蒸気蒸留や分子蒸留等によって分離されたものも抽出物に含まれる。また上記香辛性植物からの抽出物は、常用の溶剤（例えばジクロロメタン、エタノール、メタノール、エチルエーテル等）を用いて調製することができる。

【0028】

上記  $\Delta 5$  不飽和化酵素阻害剤の培地への添加量はおよそ次の通りである。胡麻油又は落花生油、あるいはこの両者の総添加量は培地に対して 0.001~10 重量%、好ましくは 0.5~10 重量%である。上記胡麻油、胡麻油製造過程の副産物（例えば胡麻種子の脱脂粕、胡麻油の脱臭スカム等）、胡麻種子等からの抽出物を添加する場合、その添加量は培地に対して  $3 \times 10^{-3}$ ~ $3 \times 10^{-1}$  重量%である。

【0029】

また、セサミン、セサミノール、エピセサミン、エピセサミノール等のリグナン類化合物を添加する場合、その添加量（これらの2種類以上を組み合わせで使用する場合はその合計量）は、培地に対して  $1 \times 10^{-3}$ ~ $1 \times 10^{-1}$  重量%である。これらの添加物類は生産微生物を接種する前又はその直後の培地に加えても

よく、又は培養を開始した直後の培地に加えてもよく、あるいは両時点で加えてもよい。培養開始後の添加は1回でもよく、又は複数回の分けて間欠的に添加してもよい。

【0030】

このようにして培養して、菌体内にアラキドン酸、ジホモγ-リノレン酸及び/又はエイコサペンタエン酸を大量に含有する脂質が生成蓄積される。

目的とする高度不飽和脂肪酸は、培養によって脂質を製造する途中の培養液若しくはその殺菌した培養液、または培養終了後の培養液若しくはその殺菌した培養液、またはそれぞれから集菌した培養菌体若しくはその乾燥物から常法に従って得ることができる。液体培地を使用した場合には、培養菌体から、例えば、次のようにして目的とする高度不飽和脂肪酸の採取を行う。

【0031】

培養終了後、培養液より遠心分離及び/又は濾過等の常用の固液分離手段により培養菌体を得る。該菌体は好ましくは、水洗、破碎、乾燥する。乾燥は、凍結乾燥、風乾等によって行うことができる。乾燥菌体は、好ましくは窒素気流下で有機溶媒によって抽出処理する。有機溶媒としてはエーテル、ヘキサン、メタノール、エタノール、クロロホルム、ジクロロメタン、石油エーテル等を用いることができ、又メタノールと石油エーテルの交互抽出やクロロホルム-メタノール-水の一層系の溶媒を用いた抽出によっても良好な結果を得ることができ、好ましくはヘキサンを用いて抽出する。

【0032】

抽出物から減圧下で有機溶媒を留去することにより、高濃度の高度不飽和脂肪酸を含有した脂質が得られる。また、上記の方法に代えて湿菌体を用いて抽出を行うことができる。この場合にはメタノール、エタノール等の水に対して相溶性の溶媒、又はこれらと水及び/又は他の溶媒とからなる水に対して相溶性の混合溶媒を使用する。その他の手順は上記と同様である。

【0033】

上記のようにして得られた脂質中には、各種高度不飽和脂肪酸が脂質化合物、例えば脂肪の構成成分として含まれている。これらを直接分離することもできる

が、低級アルコールとのエステル、例えばジホモ- $\gamma$ -リノレン酸メチル、アラキドン酸メチル、エイコサペンタエン酸メチル等として分離するのが好ましい。このようなエステルにすることにより、他の脂質成分から容易に分離することができ、また、培養中に生成する他の脂肪酸、例えばパルミチン酸、オレイン酸等（これらも、高度不飽和脂肪酸のエステル化に際してエステル化される）から容易に分離することができる。例えば、高度不飽和脂肪酸のメチルエステルを得るには、前記の抽出脂質を無水メタノール-塩酸5~10%、 $\text{BF}_3$ -メタノール10~50%等により、室温にて1~24時間処理するのが好ましい。

【0034】

前記の処理液から高度不飽和脂肪酸メチルエステルを回収するにはヘキサン、エーテル、酢酸エチル等の有機溶媒で抽出するのが好ましい。次に、この抽出液を無水硫酸ナトリウム等により乾燥し、有機溶媒を好ましくは減圧下で留去することにより主として脂肪酸エステルからなる混合物が得られる。この混合物には、目的とする高度不飽和脂肪酸メチルエステルの他に、パルミチン酸メチルエステル、ステアリン酸メチルエステル、オレイン酸メチルエステル、 $\gamma$ -リノレン酸メチルエステル等の脂肪酸メチルエステルが含まれている。

【0035】

これらの脂肪酸メチルエステル混合物から高度不飽和脂肪酸メチルエステル、すなわち本来の目的としてのジホモ- $\gamma$ -リノレン酸メチルエステル、アラキドン酸メチルエステル、エイコサペンタエン酸メチルエステルを単離するには、カラムクロマトグラフィー、低温結晶化法、尿素包接法、液々交流分配クロマトグラフィー等を単独で、又は組み合わせて使用することができる。

こうして単離された各種高度不飽和脂肪酸メチルから高度不飽和脂肪酸を得るには、アルカリで加水分解した後、エーテル、酢酸エチル等の有機溶媒で抽出すればよい。

【0036】

また、高度不飽和脂肪酸をそのメチルエステルを経ないで採取するには、前記の抽出脂質をアルカリ分解（例えば5%水酸化ナトリウムにより室温にて2~3時間）した後、この分解液から、脂肪酸の抽出・精製に常用されている方法によ

り抽出・精製することができる。

【0037】

本発明の高濃度の炭素源に耐性を有するモルティエレラ (Mortierella) 属に属する微生物を培養することによって得られる本発明の脂質は、種々の動物用飼料又は食品などの製品に利用することができる。本発明の脂質を製品に利用するにあたっては、培養菌体から採取した脂質またはそれを精製して得られる脂質を使用することができるが、該脂質を菌体培養によって製造する途中の培養液若しくはその殺菌した培養液、または培養終了後の培養液若しくはその殺菌した培養液、またはそれぞれから集菌した培養菌体若しくはその乾燥物、または培養液もしくは菌体から該油脂を採取した後の該油脂を含有する残渣も使用することができる。

【0038】

本発明は、本発明の脂質を配合した動物用飼料に関する。本発明の動物用飼料としては、ドッグフードやキャットフードなどのペットフード、鶏などの家禽のための飼料、豚や牛などの家畜のための飼料、養魚用飼料などが挙げられる。本発明の脂質を産生、蓄積した微生物の菌体は、脂質が菌体内に保護されているため酸化されにくく、また加熱殺菌にも安定であるため好ましい。また培養菌体から脂質を採取した後の残渣も、本発明の脂質の他に蛋白質や灰分、炭水化物などを含んでいるため好ましい。なお本発明の動物用飼料には、本発明の脂質のみからなるもの又は他の原料と組み合わせて加工されたもの等が含まれる。

さらに本発明には、本発明の脂質を配合した動物用飼料添加物も含まれる。

【0039】

さらに本発明は、本発明の脂質を産生、蓄積した培養菌体または培養液を含んでなる微小餌料生物用餌料に関する。従来、魚貝類や甲殻類の養殖において、種苗（稚仔魚）生産には、微小餌料生物（シオミズツボウムシ、ブラインシュリンプなどの動物プランクトン）が用いられており、稚仔魚の養殖には先ずこれらの微小生物を養殖する必要がある。これらの微小生物を培養する場合には、後にそれを餌料として摂取する稚仔魚の栄養要求性を考えて微小餌料生物に与える餌料が決められる。本発明の脂質を含有する培養菌体または培養液を微小餌料生物に

与えることにより、アラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を含有し、稚仔魚の栄養要求性を満足できる微小餌料生物が得られる。

さらに本発明には、上記の微小餌料生物を含有する魚介類用餌料も含まれる。

【0040】

本発明はまた、本発明の脂質を、アラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を強化した家禽卵の生産に利用すること、並びにアラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を強化した卵黄油の製造に利用することに関する。本発明のアラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を強化した家禽卵は、上述の動物飼料を採卵用家禽、特に鶏に与え飼育することによって産生される。また該家禽卵、特に卵黄から常法にしたがって油脂を抽出することによって、本発明のアラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を強化した卵黄油が得られる。またこの卵黄油を乳児用調製乳、未熟児用調製乳、幼児用食品、妊産婦用食品に添加することも本発明に含まれる。

【0041】

本発明はまた、本発明の脂質、好ましくはトリグリセリド油を含有する乳児用調製乳、未熟児用調製乳、幼児用食品、妊産婦用食品、老人用食品、栄養補助食品、健康食品等の食品に関する。本発明の食品は、アラキドン酸、ジホモ-γ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸を補うことを目的とし、健康維持等に用いられる。その形態は、固形、あるいは液状の食品ないしは嗜好品のいずれであってもよい。

【0042】

例えば油脂を含む食品として肉、魚、ナッツ等の油脂を含む天然食品、中華料理、ラーメン、スープ等の調理時に油脂を加える食品、天ぷら、フライ、油揚げ、チャーハン、ドーナッツ、かりん糖等の熱媒体として油脂を用いた食品、バター、マーガリン、マヨネーズ、ドレッシング、チョコレート、即席ラーメン、キャラメル、ビスケット、クッキー、ケーキ、アイスクリーム等の油脂食品又は加工時に油脂を加えた加工食品、おかき、ハードビスケット、あんパン等の加工仕

上げ時に油脂を噴霧又は塗布した食品等を挙げることができるが、油脂を含む食品に限定しているわけではなく、例えばパン、めん類、ごはん、菓子類（キャンデー、チューインガム、グミ、錠菓、和菓子）、豆腐およびその加工品などの農産食品、清酒、薬用酒、みりん、食酢、醤油、味噌などの発酵食品、ヨーグルト、ハム、ベーコン、ソーセージなどの畜産食品、かまぼこ、揚げ天、はんぺんなどの水産食品、果汁飲料、清涼飲料、スポーツ飲料、アルコール飲料、茶などの飲料等を挙げるができる。

## 【0043】

本発明の食品は、所定量の本発明の脂質を、食品原料とともに配合し、一般の製造法により加工製造することができる。その配合量は剤形、食品の形態性状により異なるが、一般には食品全量に対して0.001～50重量%が好ましいが特に限定されるものではない。

本発明はまた、本発明の脂質を含有する機能性食品に関する。本発明の機能性食品は、アラキドン酸、ジホモγーリノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸が有する生理活性機能を発揮することを目的とし、機能低下した状態を健康状態に戻し維持するための、あるいは機能低下を予防するための食品である。

## 【0044】

形態としては散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、トローチ、内用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、ドリンク剤、経腸栄養剤等の形態であっても、また例えば蛋白質（蛋白質源としてはアミノ酸バランスのとれた栄養価の高い乳蛋白質、大豆蛋白質、卵アルブミン等の蛋白質が最も広く使用されるが、これらの分解物、卵白のオリゴペプチド、大豆加水分解物等の他、アミノ酸単体の混合物も使用される）、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料等に本発明の脂肪酸が配合された自然流動食、半消化態栄養食および成分栄養食等の形態、あるいは前記飲食品の形態であってもよい。

## 【0045】

本発明の機能性食品、栄養補助食品は、本発明の脂質を用いて、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、トローチ、内用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、ドリンク剤、自然流動食、半消化態栄養食、成分栄養食、経腸栄養剤等の形態を有する

飲食品として製造することができる。この際、本発明の脂質とともにいずれの栄養成分あるいは機能性成分を配合してもよい。また医師の指示に基づく栄養士の管理下に、病院給食の調理の際に本発明の脂質を加え、その場で調整した食事を、アラキドン酸、ジホモγ-リノレン酸及び／又はエイコサペンタエン酸の供給を必要としている患者に与えることもできる。

【0046】

【実施例】

次に、実施例によりこの発明を具体的に説明する。

実施例 1

(1) グルコース 1%、酵母エキス 0.5%、(2) グルコース 2%、酵母エキス 1%、(3) グルコース 3%、酵母エキス 1.5%、(4) グルコース 4%、酵母エキス 2%、(5) グルコース 5%、酵母エキス 2.5%、(6) グルコース 8%、酵母エキス 1.6%を含む培地 (pH 6.3) 10ml を 50ml エルレンマイヤーフラスコにそれぞれ入れ、120℃で20分間殺菌した。

【0047】

モルティエセラ属 SAM2197 株 (FERM P-16106) を Czapek 寒天培地 (0.2% NaNO<sub>3</sub>、0.1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、0.05% MgSO<sub>4</sub>、0.05% KCl、0.001% FeSO<sub>4</sub>、3% Sucrose、2% 寒天、pH 6.0) スラントに植菌し、孢子形成スラントを調製した。孢子形成スラントに滅菌水 8ml を入れ、攪拌した後、孢子溶液を 100μl 植菌した。

【0048】

レシプロシェーカー (110rpm) により 28℃で6日間培養した。培養後、濾過により菌体を回収し、十分水洗した後、105℃で2時間乾燥させ、乾燥菌体重量を求め生育度 (g/L) を算出した。得られた乾燥菌体 20mg に塩化メチレン 2ml、無水メタノール-塩酸 (10%) 2ml を加え、50℃で3時間処理することによってメチルエステル化し、n-ヘキサン 4ml、水 1ml を加えて、2回抽出し溶剤を遠心エバポレーター (40℃、1時間) で留去した後、得られた脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで分析した。表 1 にその結果を示す。

【0049】

【表1】

グルコース濃度 (%)	1	2	3	4	5	8
酵母エキス濃度 (%)	0.5	1	1.5	2	2.5	1.6
生育度 (g/L)	5.17	8.98	14.16	20.22	24.93	25.13
全脂肪酸生産量 (mg/g 乾燥菌体)	55.1	119.8	70.4	125.7	135.5	179.3
アラキドン酸 含有率 (%)	25.9	35.1	30.2	47.8	53.8	43.3
アラキドン酸 生産量(g/L)	0.07	0.38	0.30	1.22	1.82	1.95

【0050】

初発グルコース濃度が4%以上であっても、アラキドン酸の生産性の向上が確認された。この結果は、アラキドン酸生産菌として知られている *Mortierella elongata* 1S-5株のグルコース濃度の影響を評価した結果 (H. Yamada, S. Shimizu and Y. Shinmen, Agric. Biol. Chem., 51, 785-790 (1987)) よりも明らかに優れていると言える。

【0051】

## 実施例2

グルコース6%及び酵母エキス2%を含む培地 (pH6.0) 100mlを500mlエルレンマイヤーフラスコに入れ、120℃で20分間殺菌した。実施例1で用いたモルティエラ属SAM2197株 (FERM P-16106) の孢子溶液100μlを植菌し、レシプロシェーカー (110rpm) により28℃で8日間振盪培養した。培養後、濾過により菌体を回収し、十分水洗した後、凍結乾燥し、乾燥菌体を3120mgを得た。この菌体より、クロロホルム-メタノール-水の一相系の溶媒を用いるBligh & Dyerの抽出によって油脂を抽出した所、624mgの油脂が得られた。

【0052】

この油脂を無水メタノール-塩酸 (10%) を用いて50℃にて3時間処理す



ることによってメチルエステル化し、エーテルで抽出して、得られた脂肪酸メチルの組成をガスクロマトグラフィーで分析した結果、パルミチン酸メチル13.3%、ステアリン酸メチル6.1%、オレイン酸メチル15.7%、リノール酸メチル7.2%、 $\gamma$ -リノレン酸メチル4.3%、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸メチル4.7%、アラキドン酸メチル42.1%であることが認められた。

【0053】

この混合物脂肪酸メチルについて、さらにカラムクロマトグラフィーによって分離し、 $\gamma$ -リノレン酸メチル、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸メチル、アラキドン酸メチル画分をそれぞれ分取し、ロータリーエバポレーターによって溶剤を留去した結果、精製された $\gamma$ -リノレン酸メチル、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸メチル、アラキドン酸メチルをそれぞれ24.1mg、26.4mg、及び236.4mg得た。

【0054】

実施例3

グルコース6%及び酵母エキス2%及び胡麻油2%を含む培地(pH6.0)2mlを10mlエルレンマイヤーフラスコに入れ、120℃で20分間殺菌した。実施例1で用いたモルティエラ属SAM2197株(FERM P-16106)の胞子溶液50 $\mu$ lを植菌し、レシプロシェーカー(150rpm)により28℃で8日間振盪培養した。培養終了後、実施例1と同様に濾過、水洗、乾燥、加水分解、メチルエステル、及び抽出を行い、得られた脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで分析した。その結果培地あたり乾燥菌体が31.2g/L、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸が1.41g/L、アラキドン酸が0.87g/Lの生産が認められた。この結果から明らかなように、 $\Delta 5$ 不飽和化酵素阻害作用を有する胡麻油を培地に添加することにより、アラキドン酸の生産が押さえられ、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸が大量に生産された。

【0055】

実施例4

グルコース6%及び酵母エキス2%を含む培地(pH 6.0)2mlを10mlエルレンマイヤーフラスコに入れ、120℃で20分間殺菌した。実施例1で用い

たモルティエレラ属SAM2197株(FERM P-16106)の孢子溶液50 $\mu$ lを植菌し、レシプロシェーカー(150rpm)により28℃で2日間振盪培養した後、培養温度を12℃に下げさらに6日間培養した、培養終了後、実施例1と同様に濾過、水洗、乾燥、加水分解、メチルエステル、及び抽出を行い、得られた脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで分析した。

【0056】

その結果、パルミチン酸メチル11.7%、ステアリン酸メチル5.8%、オレイン酸メチル12.1%、リノール酸メチル6.4%、 $\gamma$ -リノレン酸メチル4.7%、ジホモ $\gamma$ -リノレン酸メチル4.9%、アラキドン酸メチル38.1%、エイコサペンタエン酸6.1%であり、エイコサペンタエン酸が低温培養により生産できることが確かめられた。

【0057】

実施例5

(1) グルコース6%、酵母エキス2%、大豆油0.2%及びアデカノール0.01%を含む培地(pH 6.5) (2) グルコース8%、酵母エキス2%、大豆油0.2%及びアデカノール0.01%を含む培地(pH 6.5)、(3) グルコース11%、酵母エキス2%、大豆油0.2%及びアデカノール0.01%を含む培地(pH 6.5) 5Lを10L ジャーファーマンターに入れ、120℃で30分間殺菌した。モルティエレラ属SAM2197株(FERM P-16106)の前培養液100mlを植菌し、通気量1vvm、攪拌数300rpm、培養温度28℃で、8日間の通気攪拌培養を行った。

【0058】

培養2日目、培養3日目、培養4日目に2.0%グルコースを添加した。培養終了後、実施例1と同様の操作により、培地1L当り(1) 42.3g、(2) 60.5g、(3) 83.1gの乾燥菌体を得た。実施例1と同様に、乾燥菌体20mgから加水分解、メチルエステル、及び抽出を行い、得られた脂肪酸メチルエステルをガスクロマトグラフィーで分析した。アラキドン酸の全脂肪酸に対する割合(%)は(1) 40.7、(2) 39.4、(3) 41.7であり、アラキドン酸の生産量(培地あたりのアラキドン酸量)は(1) 7.1g/L、(2)

特平 9-049337

9.8 g/L、(3) 14.3 g/Lであった。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 高度不飽和脂肪酸の効率の良い製造方法の提供。

【解決手段】 炭素源に対して耐性を有するモルティエレラ属微生物を培養し、  
該培養物から高度不飽和脂肪酸を採取することを特徴とする、高度不飽和脂肪酸  
の製造方法。

【効果】 約1週間の培養で約7 g/L以上の高度不飽和脂肪酸が得られる。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ  
【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】 000001904

【住所又は居所】 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

【氏名又は名称】 サントリー株式会社

【代理人】 申請人

【識別番号】 100077517

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ  
ル 青和特許法律事務所

【氏名又は名称】 石田 敬

【選任した代理人】

【識別番号】 100087871

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ  
ル 青和特許法律事務所

【氏名又は名称】 福本 積

【選任した代理人】

【識別番号】 100088269

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ  
ル 青和特許法律事務所

【氏名又は名称】 戸田 利雄

【選任した代理人】

【識別番号】 100082898

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ  
ル 青和特許法律事務所

【氏名又は名称】 西山 雅也

特平 9-049337

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 {000001904}

1. 変更年月日 1990年 8月13日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号  
氏 名 サントリー株式会社